

Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.  
8. Jg., S. 345—353, Juli 1970

## Methoden zur Bestimmung von Östriol in der Schwangerschaft

Von B. RUNNEBAUM und K. HOLZMANN<sup>1)</sup>

*Universitäts-Frauenklinik, Heidelberg (Direktor: Prof. Dr. J. Zander)*

(Eingegangen am 17. März 1970)

Der Vergleich der verschiedenen Bestimmungsmethoden für Östriol führt zu folgenden Ergebnissen:

1. Es stehen für die Säurehydrolyse Methoden zur Verfügung, die bei verhältnismäßig kurzen Hydrolysezeiten gute Ausbeuten an Östriol erlauben. Demgegenüber hat die enzymatische Hydrolyse den Nachteil einer verhältnismäßig langen Inkubationsdauer.
2. Eine wesentliche Verbesserung der Ausbeute ist durch die Gel-Filtration vor der Hydrolyse erreichbar. Sie führt einmal zur Eliminierung von störenden Harnpigmenten und zur Entfernung von Glucose.
3. Für die Extraktion nach der Hydrolyse ist von wesentlicher Bedeutung, daß der verwandte Äther peroxidfrei ist. Optimale Ausbeuten an Östriol werden bei der Extraktion nach Sättigung mit Ammoniumsulfat oder Natriumchlorid erreicht.
4. Die Empfindlichkeit der Methoden hängt weitgehend von spezifischen Reinigungsschritten wie Säulenchromatographie und Bildung von Östriol-Derivaten (z. B. 3-Methylöstriol) ab.
5. Für die quantitative Bestimmung von Östriol bei Routinemethoden sind heute Farbreaktionen geeigneter als die Gaschromatographie.
6. Eine ausreichende Bestimmung der Zuverlässigkeitskriterien liegt bisher nur für einen Teil der Methoden vor. Bei diesen Methoden werden für die Richtigkeit Werte von 54—85% mit einer Standardabweichung von 3—10% und für die Genauigkeit Werte von  $\pm 6$ —10% erreicht. Allerdings werden einzelne dieser Methoden bei der Bestimmung niedrigerer Östriolmengen in der Frühgravidität wesentlich ungenauer.
7. Von der 14. Schwangerschaftswoche an können heute etwa 6—20 Östriolbestimmungen innerhalb von höchstens 8 Std. zuverlässig vorgenommen werden. Doppelbestimmungen sind im Einzelfall ratsam.

### *Methods for the determination of oestriol in pregnancy*

Various methods for the determination of oestriol were compared:

1. The methods of acid hydrolysis give a good yield of oestriol in a relatively short hydrolysis time. By comparison, the enzymic hydrolysis has the disadvantage of a relatively long incubation period.
2. The yield can be considerably improved by gel filtration prior to hydrolysis. This removes interfering urinary pigments and glucose.
3. It is important that the extraction of the hydrolysate be performed with peroxide-free ether. Optimum yields of oestriol are obtained if the aqueous phase is saturated with ammonium sulphate or sodium chloride.
4. The sensitivity of the methods depends largely on specific purification steps, like column chromatography and the formation of oestriol derivatives (e. g., 3-methyl-oestriol).
5. Colour reactions are more suitable nowadays than gas chromatography for the routine quantitative determination of oestriol.
6. A satisfactory determination of reliability criteria is only available for some of the methods; these show an accuracy factor of 54—85% with a standard deviation of 3—10% and values of  $\pm 6$ —10% for the precision. Some of these methods are much less accurate in the determination of low concentrations of oestriol in early pregnancy.
7. From the 14th week of pregnancy upwards it is possible to perform 6—20 reliable oestriol determinations within 8 hrs. In individual cases duplicate determinations are advisable.

Die Forschungsergebnisse der letzten Jahre haben gezeigt, daß die Östriolausscheidung im Harn diagnostische Hinweise für den Zustand von Fetus und Placenta gibt. Es wurden zahlreiche Methoden für die quantitative Bestimmung von Östriol im Schwangerenharn entwickelt (Tab. 1). Zum Teil sind diese Methoden recht aufwendig und zeitraubend. Wir beschränken uns im folgenden auf eine kritische Gegenüberstellung der Methoden, welche für klinische Routinebestimmungen in Frage kommen.

### Methoden zur Hydrolyse, Extraktion und Reinigung des Östriols

Es ist das Ziel der Säurehydrolyse bei minimaler Destruktion eine möglichst hohe Ausbeute an Östriol zu erhalten. Seit den Arbeiten von STEVENSON und MAR-

RIAN (1), BROWN (2) und BAULD (3) hat die Hydrolyse mit 15 Vol.-% HCl<sup>2)</sup> in zahlreichen Routinemethoden zur Bestimmung von Östriol Eingang gefunden, wobei die Lösung eine Stunde am Rückfluß erhitzt wird. Die Verluste an Östriol betragen unter diesen Bedingungen 10—20%. BROWN und BLAIR (4) fanden bei Erhöhung der HCl-Konzentration auf 20 Vol.-% und Verkürzung der Hydrolysezeit auf 30 Min. gleich gute Resultate. Die Hydrolysezeit kann auf 15 Min. verkürzt werden durch Erhöhung der Temperatur auf 120° (5). Die Verluste an Östriol waren unter den letztgenannten Bedingungen kleiner als 9%. Ein weiterer Faktor, der die Wiederauffindung an Östriol bei der Hydrolyse beeinflusst, ist die Verdünnung des Harns. Die Zerstörung des Östriols bei der Säurehydrolyse kann nach vorheriger Reinigung des Harns durch Gel-Filtration, wie

<sup>1)</sup> Vortrag, gehalten auf dem 15. Symposium der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie, 6.—8. März 1969 in Köln.

<sup>2)</sup> Die Angabe Vol.-% Säure wird hier gebraucht für die Volumenanteile konz. (37proz. w/w) HCl bzw. konz. (96proz. w/w) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Tab. 1  
 Östriolbestimmungsmethoden in der Schwangerschaft

Autor	Hydrolyse	Extraktion	Reinigung Trennung der Östrogene	Trennung des Östriols	Derivat- bildung	Quantitative Bestimmung
EBERLEIN und Mitarbeiter (11)	500E Glucuronidase pro 20 ml Harn 16–18 Stdn., 37°	Äther 2 × 15 ml	Verseifung mit 1N NaOH Ätherextraktion Waschen mit Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , NaOH + NaHCO <sub>3</sub> - Lösung	Aluminium- oxidsäule	—	BATES und Mitar- beiter (50) Fluorometrie
CASSMER (18)	etwa 200 ml Harn + 15 ml conc. HCl 1 Std. kochen	Äther 1 × 100 ml 2 × 50 ml	Alkalisierung Verteilung zw. Benzol/ Hexan (1:1) u. Wasser Methylierung	Aluminium- oxidsäule	3-Methyl- äther	KOBER Kolorimetrie
TAYLOR und Mitarbeiter (40)	5 ml Harn auf 100 ml verdünnt + 15 ml konz. HCl 1 Std. kochen	Äther 1 × 50 ml 2 × 25 ml	Alkalisierung Verteil- ung zw. Benzol/ Hexan (1:1) u. Wasser Methylierung	Aluminium- oxidsäule	3-Methyl- äther	KOBER Kolorimetrie
WOTIZ und MARTIN (31, 41)	100 ml Harn + 15 Vol. % konz. HCl 1 Std. kochen	Äther 1 × 100 ml 2 × 50 ml	Waschen mit NaHCO <sub>3</sub>	—	Acetat	Gaschromatographie 4% SE-30 Säule
PREEDY und AITKEN (42)	85 ml Harn + 15 ml konz. HCl 45 Min. kochen oder 10–25 ml Schwange- renplasma auf 100 ml verdünnt + 17,5 ml konz. HCl, 45 Min. kochen	Äther 4 × 25 ml	Waschen mit NaHCO <sub>3</sub> , Verteilung zw. Toluol und 1N NaOH Ätherextraktion	Celitsäule	—	BATES und Mit- arbeiter (50) Fluorometrie
KLOPPER und WILSON (12)	0,5–5 ml Harn auf 20 ml verdünnt + 3 ml konz. HCl 1 Std. kochen	Äther 1 × 20 ml	Alkalisierung Verseifung mit 1N NaOH Ätherextraktion	Aluminium- oxidsäule	3-Methyl- äther (wenn mehr als 5 ml Harn)	KOBER Kolorimetrie
KLOPPER und STEPHENSON (43)	20 ml Harn + 3 ml konz. HCl 1 Std. kochen	Äther 1 × 20 ml 2 × 10 ml	Alkalisierung Verteilung zw. 1N NaOH u. Benzol- Petroläther (1:1)	Aluminium- oxidsäule	—	ITTRICH Fluorometrie
STOA und THORSEN (27)	5–20 ml Harn auf 100 ml verdünnt + 15 ml konz. HCl 2 Stdn. kochen	Äther 1 × 100 ml 2 × 50 ml	Alkalisierung Verseifung mit 1N oder 2N NaOH Ätherextraktion	Aluminium- oxidsäule	—	KOBER Kolorimetrie
TAYLOR und Mitarbeiter (44)	bis 50 ml Harn + 20 Vol. % konz. HCl 30 Min. kochen	Äther 1 × 50 ml + 7,5 g NaCl	Alkalisierung Verteilung zw. Äther u. 2N NaOH Methy- lierung, Oxydation mit H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Aluminium- oxidsäule	3-Methyl- äther	KOBER Kolorimetrie
BROWN und COYLE (13) (3 Methoden)	bis 50 ml Harn + 20 Vol. % konz. HCl 30 Min. kochen	Äther 1 × 50 ml + 7,5 g NaCl	Alkalisierung Verteilung zw. Äther u. 2N NaOH Methy- lierung, Oxydation mit H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	—	3-Methyl- äther	KOBER Kolorimetrie
	bis 50 ml Harn + 20 Vol. % konz. HCl 30 Min. kochen	Äther 1 × 50 ml + 7,5 g NaCl	Nur Verseifung mit 1N NaOH	—	—	KOBER Kolorimetrie
BELING (16)	2–6 ml Sephadex G25 gereinigter Harn, 200FU $\beta$ -Glucuronidase pro ml 16 Stdn., 37°	Äther 2 × gleiches Volumen	Sephadex G25 Verteilung zw. Benzol/ Hexan 1:1 u. Wasser Methylierung	—	3-Methyl- äther	KOBER (NOCKE (25) Kolorimetrie
GREEN und TOUCHSTONE (14)	5 ml Harn auf 20 ml verdünnt + 3 ml konz. HCl 1 Std. kochen	Äther 1 × 22–25 ml	wie EBERLEIN und Mitarbeiter (11)	Aluminium- oxidsäule	—	BACHMANN-Reak- tion Kolorimetrie
TOUCHSTONE und Mitarbeiter (45)	10 ml Schwangeren- plasma + 15 Vol. % konz. HCl 1 Std. kochen	Äther 3 × gleiches Volumen	Waschen mit alkalischer Lösung u. Wasser	Aluminium- oxidsäule	—	BACHMANN-Reak- tion Kolorimetrie
FRANSEN und STAKEMANN (37, 46) (2 Methoden)	etwa 5 ml Harn auf 10 ml verdünnt + 3 Vol. % H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1 Std. 120°	Äther 1 × 25 ml	Alkalisierung Verteilung zw. 2N NaOH + Äther	Verteilung zwischen Lösungs- mitteln	—	KOBER Kolorimetrie
	etwa 20 ml Harn auf 40 ml verdünnt + 5 g (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1 Std. 120°	Äther 1 × 40 ml	Alkalisierung Verteilung zw. 2N NaOH + Äther	Aluminium- oxidsäule	—	KOBER Kolorimetrie
TOUCHSTONE (33)	5 ml Harn auf 15 ml verdünnt + 15 Vol. % HCl 15 Min. kochen	Äther 2 × gleiches Volumen	Verteilung zw. 1N NaOH u. Äther Waschen mit NaHCO <sub>3</sub> u. Wasser	—	—	Gaschromatographie
YOUSEM (32)	200 ml Harn + 30ml konz. HCl 1 Std. kochen	Äther 1 × 200 ml 2 × 100 ml	Waschen mit NaHCO <sub>3</sub> u. Wasser, Verteilung zw. Toluol u. 1N NaOH	—	—	Gaschromatographie 2% QF-1 Säule
DALE und Mitarbeiter (29)	5 ml Harn auf 20 ml verdünnt + 3 ml konz. HCl 1 Std. kochen	Äther 2 × 22 ml	Waschen mit alkalischen Lösungen	Aluminium- oxidsäule	—	BACHMAN-Reak- tion Kolorimetrie
ADLERCREUTZ und LUUKKAINEN (47)	10 ml Sephadex-G25 gereinigter Harn 600FU- $\beta$ Glucuronidase + 6000E Phenolsulfatase 16 Stdn. 37° oder Hydrolyse nach BROWN (2)	Äther 3 × gleiches Volumen	Sephadex-G25 Verteilung zw. 1N NaOH u. Äther Methylierung	—	16 $\alpha$ -, 17 $\beta$ - dimethyl- silyläther des Östriol- 3-methyl- äthers	Gaschromatographie Z, NGS oder SE-30 Säulen KOBER (NOCKE (25))
NACHTIGALL und Mitarbeiter (38)	1 ml Plasma + 0,2 ml Östriol-[ <sup>3</sup> H]-Konjugate + 2,8 ml Wasser + 15 Vol. % konz. HCl 40 Min. 100–110°	Äther 4 × 5 ml	Verteilung zw. Benzol/Hexan (1:1) u. Wasser Ätherextraktion	Verteilung zwischen Lösungs- mitteln	—	KOBER ITTRICH Fluorometrie

Tab. 1 (Fortsetzung)

Autor	Hydrolyse	Extraktion	Reinigung Trennung der Östrogene	Trennung des Östriols	Derivat- bildung	Quantitative Bestimmung
SCHINDLER und HERRMANN (22)	50 ml Harn + Östriol- [6, 7- <sup>3</sup> H] + 15 Vol.-% konz. HCl 1 Std. kochen	Äther 3 × 50 ml	Waschen mit NaHCO <sub>3</sub> Verteilung zw. 2N NaOH u. Äther Ätherextraktion	—	Trimethyl- silyläther	Gaschromatographie 2% XE-60 Säule
BENGTSOON und FORSGRÉN (20)	200 ml Harn + 30 ml konz. HCl 30 Min. kochen	Äther 1 × 100 ml 2 × 50 ml	Waschen mit NaHCO <sub>3</sub> Verteilung zw. 1N NaOH u. Äther Ätherextraktion	—	Acetat	Gaschromatographie 3% SE-30 Säule
HAUSKNECHT (23)	100 ml Harn auf 200 ml verdünnt + Östriol-[7- <sup>3</sup> H] + 30 ml konz. HCl 45 Min. kochen	Äther mehrmals	Verteilung zw. 2N NaOH u. Äther Ätherextraktion	Dünnschicht- chromato- graphie	Trimethyl- silyläther (nur für Gas- chromato- graphie)	KOBER- ITTRICH Kolorimetrie Gaschromatographie
NILSSON und BENGTSOON (21)	50.000E $\beta$ -Glucuro- nidase + 50.000E Sulfatase 90 Stdn. 37°	Äther/ Äthanol 4:1 v/v 3 × 100 ml	Waschen mit NaHCO <sub>3</sub> Verteilungen zw. 2N NaOH u. Äther + 1N NaOH u. Toluol Ätherextraktion	Verteilung zwischen Lösungs- mitteln	Acetat	Gaschromatographie 2,4% XE-60 Säule

Tab. 2  
Säurehydrolyse für Östriolbestimmungen in der Schwangerschaft

Harn	ml	Säurezusatz	Std.	Inkubation Temperatur	Verluste %	Autor
Nativharn	200	30 ml HCl	1	100°	10—20	BROWN (2)
Nativharn	50	20 Vol.-% HCl	1/2	100°	10—20	BROWN und COYLE (13)
Gel-Filtrat	10	15 Vol.-% HCl	1	100°	0—5	ADLERCREUTZ und LUUKKAINEN (7)
auf 6 ml verdünnt	0,5—4	15 Vol.-% HCl	1/4	120°	9	BROWN und Mitarbeiter (5)
auf 20 ml verdünnt	5	3 Vol.-% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1	120°	5	FRANDSEN (8)

BELING (6) und ADLERCREUTZ und LUUKKAINEN (7) zeigten, unter 5% gehalten werden. FRANDSEN (8) hydrolysierte mit 3 Vol.-% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> eine Stunde bei 120° und hat durchschnittlich 5% Verluste an Östriol. Einige Hydrolyseverfahren sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

Bei unverdünntem Harn (Abb. 1) wird mit 2—3 Vol.-% Schwefelsäure ein Hydrolyseoptimum für Östriol erreicht. Bei höherer Säurekonzentration kommt es unter den gleichen Bedingungen zu erheblichen Verlusten. Ist jedoch der Harn 1:5 verdünnt, dann sind selbst bei Verwendung von 6 Vol.-% Schwefelsäure die Verluste noch verhältnismäßig gering. Daß die Pigmentkonzentration im Harn bei der Hydrolyse die Ausbeute an

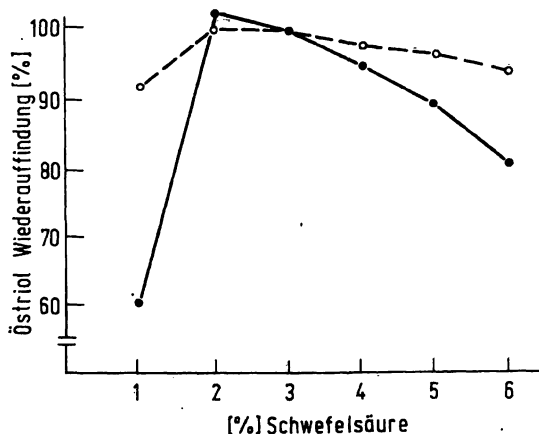


Abb. 1

Wiederauffindung von Östriol nach Hydrolyse mit unterschiedlichen Schwefelsäurekonzentrationen bei 120° und 1 Std. Erhitzen. Es wurden unverdünnter (—•—) und 1:5 verdünnter (---○---) Harn verwandt (nach FRANDSEN, (8))

Östriol beeinflussen kann, ist bekannt. So fand HOBKIRK (9) im Harn einer Schwangeren, der 1:2,5 verdünnt war, 15,4 mg Östriol pro 24 Stundenharn, während in demselben Harn, der 1:24fach verdünnt war, 22,1 mg pro 24 Stundenharn gefunden wurde.

Ferner kann Glucose bei der Säurehydrolyse die Wiederauffindung von Östriol erheblich stören. Um diese Fehlermöglichkeit zu umgehen, bieten sich verschiedene Verfahren an. Einmal die Verdünnung des Harns auf 1:10 (4, 9), die Gel-Filtration zur Entfernung der Glucose (6) und die Sättigung des glucosehaltigen Harns mit Ammoniumsulfat, wobei konjugierte Östrogene mit Essigester: Äthanol (23:7, v/v) extrahiert werden. Die letzte Methode hat FRANDSEN (10) angewandt.

Die Säurehydrolyse kann bei ausreichender Ausbeute an Östriol mit verhältnismäßig großen Harnmengen im Vergleich zur enzymatischen Hydrolyse schnell und billig durchgeführt werden. Sie eignet sich daher besonders für Routinemethoden.

Bei der enzymatischen Hydrolyse schwanken die Östriol-ausbeuten gelegentlich außerordentlich stark. Das liegt einmal an der unterschiedlichen Aktivität der Enzympräparate, zum anderen an Enzyminhibitoren, die im Harn in wechselndem Umfange entstehen können. Die Entstehung solcher Enzyminhibitoren läßt sich durch eine vorherige Gel-Filtration des Harns weitgehend ausschalten. BELING (6) sowie ADLERCREUTZ und LUUKKAINEN (7) fanden nach Gel-Filtration und anschließender enzymatischer Hydrolyse eine mittlere Wiederauffindung an Östriol von 95%. Die kürzesten Zeiten, die für enzymatische Hydrolyse in Östriolbestimmungsmethoden genannt werden, betragen 16 Stdn. (6, 7, 11).

### Methoden zur Extraktion

Die Extraktion des hydrolysierten Harns erfolgt in den meisten Östriolbestimmungsmethoden mit Diäthyläther. Genauere Daten für die Ausbeute an Östriol bei der Ätherextraktion liegen nur vereinzelt vor. Bemessen an der Wiederfindung der Gesamtmethode scheint eine einmalige Extraktion mit gleichem Volumen Äther ausreichend zu sein, wenn dem Harn vor der Hydrolyse Natriumchlorid oder Ammoniumsulfat zugesetzt wird (5, 8, 12, 13, 14). Östriol läßt sich nahezu quantitativ extrahieren, wenn der hydrolysierte Harn mindestens eine 12proz. Ammoniumsulfatsättigung aufweist (Abb. 2).

Ferner spielt die für Extraktion von Östriol der Peroxidgehalt des Äthers eine wesentliche Rolle. So hat FRANDSEN (8) aus Peroxid-Äther, dem 10 µg Östriol zugesetzt waren, nur 5,6 µg Östriol wiedergefunden.

Zur Reinigung des Äthers werden Eisensulfat-, Silbernitrat-Lösungen sowie Kalilauge verwendet (8, 15, 16). Der Äther sollte wöchentlich 2mal präpariert und bei 4° aufbewahrt werden.

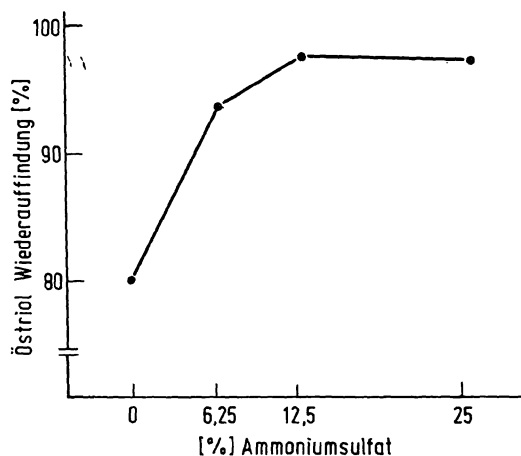


Abb. 2

Wiederauffindung von Östriol bei der Extraktion des hydrolysierten Harns mit Äther nach unterschiedlichem Zusatz von Ammoniumsulfat (nach FRANDSEN, (8))

### Reinigung und Trennung des Östriols

Die Trennung der phenolischen Östrogene von den neutralen Steroiden erfolgt gewöhnlich durch Verteilung zwischen organischen Lösungsmitteln und wäßr. NaOH-Lösungen (3, 17). In den meisten Östriolmethoden erfolgt zusätzlich entweder eine Trennung des Östriols durch Säulenchromatographie an Aluminiumoxid oder eine Derivatbildung des Östriols (Abb. 3). In einigen Methoden mit kolorimetrischer Bestimmung des Östriols wird die Bildung des 3-Methyläthers nach BROWN (2) angewandt (18, 13, 6). Für die gaschromatographische Bestimmung des Östriols haben sich Acetate (19, 20, 21) und Dimethylsilyl-Äther als brauchbar erwiesen (7, 22). Besondere Vorteile für die Reinigung und Trennung des Östriols bringt die von BELING (6) angegebene Gel-Filtration an Sephadex G 25, da neben der Fraktionierung der Östriolkonjugate vor der Hydrolyse schon Harnpigmente und beispielsweise Glucose entfernt werden.

Die Dünnschichtchromatographie wurde für die Isolierung des Östriols aus Schwangerenarn von HAUSKNECHT (23) angewandt. Im übrigen haben aber Dünnschicht- und Papierchromatographie für routinemäßige Östriolbestimmungen bisher keine Anwendung gefunden.

### Farbreaktionen zur quantitativen Bestimmung von Östriol

KOBER (24) fand, daß phenolische Östrogene durch Erhitzen mit Schwefelsäure einen gelben Farbkomplex bilden, der nach Verminderung der Schwefelsäurekonzentration in rot übergeht. Zur optimalen Bildung des ersten Farbkomplexes wird für Östriol 76% Schwefelsäure bei Anwesenheit von Hydrochinon verwandt, während zur Entstehung des zweiten Farbkomplexes nach BROWN (2) 55% Schwefelsäure erforderlich ist. NOCKE (25) hat die Bedingungen für die Bildung der

Reinigung des Östriols und quantitative Bestimmung	Taylor und Mitarbeiter (40)	Beling (6)	Greene und Touchstone (14)	Frandsen und Stake-mann (37,46)	Schindler und Herrmann (22)	Klopfer und Stephenson (43)	Hausknecht (23)	Brown und Coyle (13)	Brown und Mitarbeiter (5)
Sephadex									
Verteilung organ. Lösungsmittel: NaOH	•		•	•	•	•	•	•	•
Verteilung organ. Lösungsmittel: H <sub>2</sub> O	•	•		•					
Methylierung	•	•				•		•	
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -Säule	•		•	○		•		•	
Dünnschicht-Chromatographie							•		
Trimethyl-Silyl-Derivat					•		•		
Kober	•	•		•		•		•	•
Ittrich									○
Bachmann			•						
Gas-chromatographie					•		•		

Abb. 3

Darstellung der wesentlichen Schritte zur Reinigung und Trennung von Östriol sowie der Meßprinzipien einiger Östriolbestimmungsmethoden

- = obligater Schritt
- = fakultativer Schritt

# Standardmethoden für biochemische Trennungen



## Gelfiltration mit Sephadex und Sepharose

zur Trennung von Molekülen bis  $MW 40 \times 10^6$ . Die Gelfiltration

gestattet Trennungen labiler biologischer Substanzen unter sehr schonenden Bedingungen.



## Ionenaustauscher-Chromatographie mit Sephadex-Ionenaustauschern,

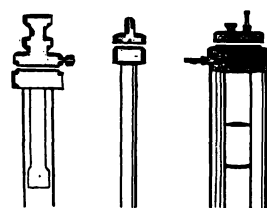
die die Vorzüge von Cellulose- und Kunstharzaustauschern ver-

einigen. Charakteristisch sind hohe Kapazität, niedrige unspezifische Adsorption und ausgezeichnete Reproduzierbarkeit.



## Verteilung in wäßrigen Phasen-Systemen mit Dextran und Dextran-Derivaten

zur Fraktionierung sehr hochmolekularer Stoffe wie Viren, Nukleinsäuren und Zellpartikeln unter sehr milden Bedingungen.



## Chromatographierohre

Unsere Chromatographierohre, die wir speziell für Gelfiltration und Ionenaustausch-Chromato-

graphie entwickelt haben, ermöglichen reproduzierbare Trennresultate. Sie stehen Ihnen in großer Auswahl mit diversem Zubehör zur Verfügung.

## Literaturdienst

Als Hilfe für Wissenschaftler geben wir einen umfassenden Literaturdienst heraus. Eine jährlich erscheinende Referenzliste enthält etwa 1000 neue

Literaturstellen. Bitte schreiben Sie uns, wenn wir Sie in unseren Verteiler aufnehmen sollen. Fordern Sie auch Broschüren über unsere Separationsprodukte und das Literaturverzeichnis an.

Deutsche Pharmacia GmbH  
6 FRANKFURT AM MAIN 50  
Kurhessenstraße 95  
Haus am Schwälbenschwanz

 **Pharmacia**

# Sie können in noch kürzerer Zeit für noch weniger Geld noch bessere Filtrations-Ergebnisse erzielen . . .

**Falls Sie nicht schon mit Sartorius-Membranfiltern arbeiten**

Sartorius-Membranfilter sind ein modernes und hochwertiges Filtermaterial aus Cellulosederivaten und anderen Polymerstoffen, das sich durch besondere Eigenschaften und strukturelle Gleichmäßigkeit von anderen Filtermedien grundlegend unterscheidet. Die hohe Durchflußleistung beruht auf einem Hohlraumvolumen von 85—65% entsprechend der Filterfeinheit und ca.  $10^8$  Poren pro  $\text{cm}^2$ . Sartorius-Membranfilter haben eine schaumartige, sehr gleichmäßige Struktur mit definierten Porengrößen von 10 Mikron bis 5 nm.

Ihre Anwendung erstreckt sich auf die Anreicherung, Abscheidung und Trennung von Stoffen grobdisperser und kolloider Teilchen aus Flüssigkeiten oder Gasen durch Filtration. Weitere Anwendungsgebiete sind die Dialyse, die Osmose und die Elektrophorese.

Die Abtrennung erfolgt nach dem Siebeffekt: Alle Partikel, die größer sind als die mittlere Porengröße des Filters, werden zuverlässig auf der Oberfläche abgelagert. Konzentrationsänderungen durch Adsorption werden auf diese Weise vermieden. Sartorius-Membranfilter geben keine

filtereigenen Bestandteile an das Filtrat ab und können im Filtrationsgerät autoklaviert werden. Da Sartorius-Membranfilter aus den verschiedensten Rohstoffen hergestellt werden, bietet sich die Möglichkeit, vom Labormaßstab bis zur großtechnischen Filtration jedem Anwendungsfall entsprechend das optimale Filter auszuwählen.

Genauso differenziert ist auch das dazugehörige Filtrationsgeräte-Programm: Es reicht von Spritzenvorsätzen über Filtrationsgeräte aus Glas, Edelstahl und Kunststoffen bis hin zu Mehrschichtenfiltrationsgeräten in Plattenbauweise.

Überzeugen Sie sich doch einmal selbst von den bemerkenswerten Eigenschaften unserer Filter und Geräte, indem Sie damit arbeiten. Wir senden Ihnen auf Anforderung gern jederzeit kostenlose Musterfilter und weiteres Informationsmaterial zu.



**Sartorius Membranfilter**

**SARTORIUS-MEMBRANFILTER GMBH · 34 GÖTTINGEN · POSTFACH 142**

Kober-Farbstoffe ausführlich überprüft und fand, daß eine 50proz. Schwefelsäurekonzentration für eine optimale Bildung des zweiten Farbkomplexes vorhanden sein muß. Die Bildung des zweiten Farbstoffes konnte durch Anwesenheit von UV-Licht und längeres Erhitzen (12 Min.) verbessert werden.

Eine Konzentrierung und Reinigung der Kober-Farbstoffe gelang ITTRICH (16) durch selektive Extraktion des Farbstoffes mit einer 2proz. Lösung von *p*-Nitrophenol in Chloroform: Äthylalkohol (99:1) oder besser durch eine 2proz. *p*-Nitrophenollösung in Acetylen-tetrabromid:Äthylalkohol (99:1) (26). Der auf diese Weise extrahierte Farbstoff zeigt eine hohe Empfindlichkeit besonders in der Fluorometrie. Das ITTRICHsche Extraktionsprinzip in Kombination mit der Fluorometrie kommt besonders für Östriolbestimmungen in der Frühgravidität zur Anwendung (27).

Von Interesse ist die von BACHMAN (28) angegebene Farbreaktion, deren Spezifität für die Bestimmung von Östriol und 16-epi-Östriol erwiesen ist. Das Reagenz besteht aus 2 g Na-*p*-Phenolsulfonat in 100 ml 85proz. Phosphorsäure. Den Östriolproben werden 15 ml des Reagenz zugegeben. Sie werden 9 Min. bei 150° erhitzt. Dabei entsteht ein Violett-Rosa-Farbkomplex. Diese Farbreaktion wurde zur Bestimmung von Östriol in der Schwangerschaft bei EBERLEIN und Mitarbeitern (11), GREENE und TOUCHSTONE (14) und DALE und Mitarbeitern (29) angewandt. Eine Zusammenstellung der Meßprinzipien enthält Tabelle 3.

Fremdstoffe, wie Phenolphthalein — und östrogenhaltige Substanzen können bei kolorimetrischer Messung durch Interferenz das Resultat verfälschen. Es sollte deshalb 2—3 Tage vor der Harnsammlung jegliche Medikation unterbleiben. Ebenfalls spielt der endogene Pigmentgehalt im Harn eine Rolle. Man kann ihn durch Einstellung auf eine möglichst konstante tägliche Harnmenge von etwa 1000 ml/niedrig halten. Geringfügige Verunreinigungen lassen sich durch Anwendung der Allen-Korrektur weitgehend eliminieren. Ferner können durch das ITTRICHsche Extraktionsverfahren die meisten nicht durch Östrogene bedingten Chromogene entfernt werden.

Bei den fluorometrischen Methoden besteht ständig die Gefahr der Interferenz mit unspezifischen Substanzen aus biologischem Material. Hier ist deshalb in der Regel eine intensivere Reinigung der Extrakte erforderlich (30).

## Gaschromatographie

Seit der Einführung der Gaschromatographie für Östriolbestimmungen im Schwangerenurharn durch WORTZ und MARTIN (31) liegen mit dieser Methode für die routinemäßige Bestimmung des Östriols nur vereinzelt Resultate vor. YOUSEM (32) und TOUCHSTONE (33) haben für die Bestimmung von freiem Östriol gaschromatographische Kurzmethode entwickelt. Angaben zur Genauigkeit liegen für die beiden Methoden nicht vor. Mehr erfolgversprechend ist die Gaschromatographie von Östriolderivaten. Es eignen sich Acetate, da sie verhältnismäßig stabil sind (19, 21). Ferner haben sich Dimethylsilyl-Äther-Derivate des Östriols bewährt, die sich im Gegensatz zu freiem Östriol schnell von der Säule eluieren lassen (22, 23, 7). Die Reinigung der Extrakte ist für die gaschromatographischen Methoden ebenso aufwendig wie für kolorimetrische Methoden. Zusätzlich erfordert die Gaschromatographie viel Erfahrung und ist wesentlich teurer als die spektrophotometrischen Methoden. Die Vorstellung, daß grob gereinigte Harnextrakte auf die Gaschromatographie gegeben werden können, haben sich als falsch erwiesen. Im Gegenteil haben die Erfahrungen mit der Gaschromatographie gezeigt, daß diese Methode nur dann ausreichend genaue Werte liefert, wenn die Extrakte hoch gereinigt sind.

## Zuverlässigkeitskriterien für Östriolbestimmungsmethoden in der Schwangerschaft

Nach BORTH (34, 35) und BROWN und Mitarbeitern (36) sind die wesentlichen Merkmale für die Zuverlässigkeit einer chemischen Hormonbestimmungsmethode Richtigkeit, Genauigkeit, Empfindlichkeit und Spezifität. Die drei ersten Kriterien wurden für die gebräuchlicheren Östriolbestimmungsmethoden geprüft, soweit entsprechende Daten angegeben waren (Tab. 4).

### Richtigkeit

Die Richtigkeit einer Messung kennzeichnet nach der BORTHSchen Definition die Genauigkeit, mit der sie sich dem wahren Wert nähert. Sie kann für eine analytische Methode nur dann ausreichend bestimmt werden, wenn Zusatzversuche mit bekannten Mengen an reinem authentischem Material durchgeführt werden.

Optimale Bedingungen für die Richtigkeit einer Methode können durch routinemäßigen Zusatz von radioaktiv

Tab. 3  
Meßprinzipien für Östriolbestimmungen in der Schwangerschaft

<b>Farbreaktionen:</b>	
1. Kober-Farbstoffe	
a) nach BROWN (2)	(1. 76% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ; 2. 55% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )
b) nach NOCKE (25)	(1. 76% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ; 2. 50% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )
2. Ittrich-Farbstoffe	
a) ITTRICH (16)	(Extraktion mit 2% <i>p</i> -Nitrophenol in Chloroform oder Acetylen-tetrabromid)
b) ITTRICH (26)	
3. Bachman-Farbstoffe	
BACHMAN (28)	(2 g Na- <i>p</i> -Phenolsulfonat in 100 ml 85 proz. Phosphorsäure)

Tab. 4  
Richtigkeit, Genauigkeit und Empfindlichkeit von Östriolmethoden

Methode	Östriolzusatz	Richtigkeit Wiederauffindung % $\pm$ s n <sup>1)</sup>	Genauigkeit n <sup>1)</sup>	Untere Grenze der Empfindlichkeit $\mu\text{g}/24$ Stdn. Harn
EBERLEIN und Mitarbeiter (11)	—	—	Doppelbestimmungen mit 1,2—9,0 $\mu\text{g}/24$ Stdn.-Harn s $\pm$ 0,47 $\mu\text{g}$ mit 11,1—42,7 $\mu\text{g}/24$ Stdn.-Harn s $\pm$ 1,17 $\mu\text{g}$	5—10
CASSMER (18)	10—20 $\mu\text{g}$ zum 24 Stdn.-Harn	84 $\pm$ 9,3	Doppelbestimmungen mit 5—40 $\mu\text{g}/24$ Stdn.-Harn s $\pm$ 1,24 $\mu\text{g}$	5—10
PREEDY und AITKEN (42)	2—12 $\mu\text{g}$ zum 24 Stdn.-Harn 13—30 $\mu\text{g}$ zum 24 Stdn.-Harn 31—50 $\mu\text{g}$ zum 24 Stdn.-Harn 1,3—11,9 $\mu\text{g}$ zu 100 ml Plasma	75 $\pm$ 14 82 $\pm$ 6 88 $\pm$ 5 53—75 %	10 6 7 9	Doppelbestimmungen mit 2,9—12,3 $\mu\text{g}/24$ Stdn.-Harn s $\pm$ 0,19 $\mu\text{g}$  0,1—0,5 $\mu\text{g}$ pro 100 ml Plasma
TAYLOR (40) TAYLOR und Mitarbeiter (44)	—	etwa 85 %	s etwa $\pm$ 10 %	20—50
KLOPPER und WILSON (12)	2,4 $\mu\text{g}$ zu 10 ml Männerharn 11,50 $\mu\text{g}$ zu 5 ml Männerharn 14,40 $\mu\text{g}$ zu 1 ml Männerharn	74,3 $\pm$ 12,5 81,1 $\pm$ 4,1 87,7 $\pm$ 5,8	16 16 16	s $\pm$ 17,3 % (2,41 $\mu\text{g}$ ) s $\pm$ 5,1 % (11,50 $\mu\text{g}$ ) s $\pm$ 6,3 % (14,40 $\mu\text{g}$ )
STOA und THORSEN (27)	0,05—0,1 $\mu\text{g}$ zu 25 ml Harn	84—94	Doppelbestimmungen mit 0,3—0,5 $\mu\text{g}$ s $\pm$ 0,06 $\mu\text{g}$ mit 0,51—1,0 $\mu\text{g}$ s $\pm$ 0,08 $\mu\text{g}$ mit 1,01—3,0 $\mu\text{g}$ s $\pm$ 0,18 $\mu\text{g}$	11 16 23
BROWN und COYLE (13) (3 Methoden)	5 $\mu\text{g}$ zu 20 ml verdünntem oder unverdünntem Harn	79 $\pm$ 4,6	23	Doppelbestimmungen mit 0,1—1 mg/24 Stdn.-Harn s $\pm$ 6,7 % 1—20 $\mu\text{g}/24$ Stdn.-Harn s $\pm$ 5,7 %
	5 $\mu\text{g}$ zu 20 ml verdünntem oder unverdünntem Harn	82 $\pm$ 3,9	23	—
	5 $\mu\text{g}$ zu 20 ml verdünntem oder unverdünntem Harn	85 $\pm$ 6,1	36	—
BELING (16)	0,5 $\mu\text{g}$ Östriol-16, 17- glucosiduronat 5 $\mu\text{g}$ Östriol-3-sulfat 0,5—20 $\mu\text{g}$ Östriol-3- glucosiduronat jeweils zu 5 ml Männerharn	70 $\pm$ 6,4 78 $\pm$ 7,0 78,7 (6)	10 8	Wiederholungsbestimmungen mit 0,72—23,4 mg Östriol pro 24 Stdn.-Harn s $\pm$ 6 %
GREEN und TOUCHSTONE (14)	60 $\mu\text{g}$ Östriol zu Wasser	54 $\pm$ 10	24	—
ADLERCREUTZ und LUUKKAINEN (7, 47)	—	—	Doppelbestimmungen mit 0,22—4,94 mg/24 Stdn.-Harn s $\pm$ 0,12 mg mit 7,57—56,8 mg/24 Stdn.-Harn s $\pm$ 0,32 mg	15 14
NACHTIGALL und Mitarbeiter (38)	6000 Imp./Min. Östriol-[ <sup>3</sup> H]- Konjugate zu 1 ml Schwangerenplasma	55—88 %	Wiederholungsversuche mit Spätschwangerenplasma 20,7 $\pm$ 2,5 $\mu\text{g}/100$ ml	27
SCHINDLER und HERRMANN (22)	5491 Imp./Min. Östriol- [6,7- <sup>3</sup> H] zu Männerharn	71,6 (5)	Wiederholungsversuche mit Spätschwangerenplasma s $\pm$ 1,5 mg/24 Stdn.-Harn	1000
NILSSON und BENGTSOON (21)	50—125 $\mu\text{g}$ zu 200 ml Männerharn	74,8 $\pm$ 3,7	8	Doppelbestimmungen mit 0,268—4,21 mg/24 Stdn.-Harn s $\pm$ 3,6 %
RUNNEBAUM und Mitarbeiter (48) (nach l. c. (37), (46))	9,6 $\mu\text{g}$ zu 5 ml Harn auf 20 ml verdünnt 9,6 $\mu\text{g}$ zu 20 ml Wasser	5,6 $\pm$ 0,53 $\mu\text{g}$ 7,7 $\pm$ 0,14 $\mu\text{g}$	10 10	Doppelbestimmungen mit 1—5 mg/24 Stdn.-Harn s $\pm$ 0,26 mit 5—20 mg/24 Stdn.-Harn s $\pm$ 0,25 mg

<sup>1)</sup> Anzahl der Doppelbestimmungen

markierten Steroiden erzielt werden. Allerdings ist diese Forderung für klinische Routinemethoden in der Regel nicht praktikabel, da häufig keine entsprechenden Geräte für die Messung der Radioaktivität zur Verfügung stehen. Es kann somit durch Zusatzversuche mit bekannten Mengen an Östriol die mittlere Wiederauffindung mit der Standardabweichung ermittelt werden. Von mehr als 20 Östriolbestimmungsmethoden, die speziell in der Schwangerschaft zur Anwendung kommen, fanden sich in nur etwa der Hälfte der Methoden ausreichende Daten zur Richtigkeit. Die Wiederauffindungen für Östriol bewegen sich zwischen 55 und 85%. Wenn für die Verluste während der Aufarbeitung nicht

korrigiert wird, wie es in den meisten Östriolmethoden der Fall ist, so werden Östriolwerte verschiedener Laboratorien kaum miteinander vergleichbar sein.

#### Genauigkeit

Die Genauigkeit einer Methode ergibt sich aus der Reproduzierbarkeit der Messungen. Sie kann einmal durch Wiederholungsversuche bestimmt werden. Ein weiteres Maß für die Genauigkeit ist die Standardabweichung aus den Differenzen der Ergebnisse von Doppelbestimmungen. Die 2. Methode eignet sich besonders für Routinemethoden, weil dabei die Genauigkeit über einen längeren Zeitraum ermittelt werden



kann, die bei der Handhabung der biologischen Proben erreicht wird. Die Genauigkeit ist ebenfalls für etwa die Hälfte der Östriolbestimmungsmethoden ausreichend bekannt. In den letzten 2 Trimestern der Schwangerschaft sind Methoden von KLOPPER und WILSON (12), BELING (6) und von BROWN und COYLE (13) ausreichend genau, allerdings zum Teil mit einem zu großen Arbeitsaufwand verbunden. Nur unzureichende oder keine Genauigkeitskriterien liegen für die meisten gaschromatographischen Methoden vor (31, 32, 33, 20, 23). Die etwas aufwendigen gaschromatographischen Methoden von ADLERCREUTZ und LUUKKAINEN (7) und NILSSON und BENGSSON (21) machen eine Ausnahme.

### Empfindlichkeit

Die Empfindlichkeit einer analytischen Methode ist durch die geringste Menge einer reinen Substanz bestimmt, die mit der Methode noch quantitativ erfaßt werden kann. Es muß allerdings unterschieden werden zwischen der geringsten Menge reinen Östriols, das noch quantitativ erfaßt werden kann und zwischen der geringsten Östriolmenge, die mit ausreichender Richtigkeit und Genauigkeit aus biologischem Material isoliert gemessen werden kann. Da die Östriolkonzentrationen im Harn im Verlauf der Schwangerschaft um den Faktor 1000 und mehr ansteigen, können naturgemäß Methoden mit sehr unterschiedlicher Empfindlichkeit zur Anwendung kommen. Die untere Grenze der Empfindlichkeit liegt für einige aufwendige Östriolmethoden (Modifikationen nach BROWN (2) und BAULD (3)) bei 5–10 µg im 24 Stundenharn. Für klinisch anwendbare Östriolmethoden in der Schwangerschaft ist die untere Grenze der Empfindlichkeit häufig nicht exakt bekannt, so daß bei Bestimmungen in der Frühgravidität mit einer größeren Variabilität der Werte durch methodische Fehler gerechnet werden muß.

### Spezifität

Wichtige Schlüsse für die Spezifität einer Methode können zunächst aus den Prinzipien gezogen werden, auf denen die Methode bzw. ihre verschiedenen Arbeitsgänge beruhen. Mit einer angemessenen Spezifität einer mikroanalytischen Methode zur Bestimmung von

Östriol kann man rechnen, wenn eine ausreichende chromatographische Trennung des Östriols von den Verunreinigungen und von den anderen Steroiden erfolgt. Die Spezifität einer Methode ist immer dann besonders wichtig, wenn nur geringe Mengen der zu messenden Substanz im biologischen Material vorhanden sind. Bei Östriolbestimmungen in der Schwangerschaft mit hohen Steroidkonzentrationen zeigt sich, daß selbst bei den Methoden, die keine Derivatbildung des Östriols oder eine Chromatographie beinhalten, an dem Endprodukt die Charakteristika des Östriols nachweisbar waren (8).

### Kriterien für die Wahl einer Östriolmethode

Bei der Auswahl einer Östriolmethode für ein konventionelles Laboratorium sind Zeit und Materialaufwand, die für eine Bestimmung erforderlich sind, entscheidend. Eine Schnellmethode dieser Art sollte jedoch ebenfalls ausreichend spezifisch und genau sein. Aus diesen Forderungen geht hervor, daß im Verlauf der Schwangerschaft wie bereits erwähnt, Östriolmethoden mit unterschiedlichem Empfindlichkeitsbereich angewandt werden müssen.

Östriolbestimmungsmethoden, die wenigstens zum Teil eine Bewertung für einen bestimmten quantitativen Bereich zulassen, sind in Tabelle 5 ersichtlich. Die Wiederauffindungen bewegen sich zwischen 54 und 85%. Da die Werte in der Regel nicht für Verluste korrigiert werden, wird hieraus verständlich, daß jedes Laboratorium eine eigene Normalkurve zu Vergleichszwecken braucht. Die Genauigkeit beträgt für die genannten Methoden zwischen 6 und 10%. Allerdings schwanken die quantitativen Bereiche für die angegebenen Genauigkeitswerte zwischen 0,1 und 15 mg pro 24-Stundenharn.

Es erhebt sich die Frage, wieviele Bestimmungen innerhalb welcher Zeit in einer bestimmten Schwangerschaftsphase durchführbar sind. Mit der Methode nach BELING (6) sind beispielsweise etwa ab der 14. Schwangerschaftswoche bei ausreichender Genauigkeit 20–30 Bestimmungen pro Tag möglich. Im Vergleich dazu läßt die Methode nach FRANDSEN und STAKEMANN (37) ab der 20. Schwangerschaftswoche in 4–5 Std. 10–20 Be-

Tab. 5  
Vergleich zwischen Zuverlässigkeit und Arbeitsaufwand einiger Östriolbestimmungsmethoden

Zuverlässigkeitskriterien <sup>1)</sup>	TAYLOR und Mitarbeiter (40)	BELING (6)	GREENE und TOUCHSTONE (14)	RUNNEBAUM <sup>1)</sup> und Mitarbeiter (48)	SCHINDLER und HERRMANN (22)	KLOPPER und STEPHENSON (43)	BROWN und COYLE (13)	BROWN und Mitarbeiter (5)
Richtigkeit % ( $\bar{x} \pm s$ )	etwa 85	78 $\pm$ 7	54 $\pm$ 10	58 $\pm$ 9	71,6	81 $\pm$ 4	79 $\pm$ 4,6	75 $\pm$ 3
Genauigkeit VK (%)	etwa $\pm$ 10	$\pm$ 6	—	$\pm$ 10	$\pm$ 5–10	$\pm$ 6	$\pm$ 6,7	$\pm$ 5,6
Empfindlichkeitsbereich mg Östriol/24 Stdn.	—	0,7–23	—	1–5	15–40	0,1–0,2	0,1–1,0	1–10
Untere Grenze der Empfindlichkeit (mg Östriol/24 Stdn.)	0,02–0,05	0,1–0,3	0,02–0,05	1,0	1,0	0,05–0,1	0,1	—
Anwendung: Stunden Bestimmungen	8 10	8 (+16) <sup>2)</sup> 20–30	8 8	4–5 10–20	6–8 10	8 6	6 8	3 <sup>1/2</sup> 12

<sup>1)</sup> Methode nach FRANDSEN und STAKEMANN (37), Hydrolyse mit 15 Vol. % HCl, 1 Std. erhitzen.

<sup>2)</sup> Die angegebene Zuverlässigkeit bezieht sich auf die genannten quantitativen Bereiche (mg Östriol/24 Stdn.).

<sup>3)</sup> Dauer der enzymatischen Hydrolyse 16 Stdn.

stimmungen zu. Für die ersten Wochen in der Schwangerschaft kommt z. B. die Methode nach KLOPPER und WILSON (12) in Frage, mit der 6 Bestimmungen pro Tag durchgeführt werden können, oder ab dem 2.—3. Schwangerschaftsmonat die Methode nach BROWN und COYLE (13), mit der sich 8 Bestimmungen in 6 Stdn. durchführen lassen. Die Methode nach BROWN und Mitarbeitern (5) erfaßt die Gesamtöstrogene und soll hier nur vergleichsweise angeführt werden. Es können durch Automatisierung der Extraktionsschritte 12 Bestimmungen in 3½ Stdn. durchgeführt werden. Eine Begründung für die unterschiedliche Empfindlichkeit der einzelnen Methoden gibt Abbildung 3.

Aus Abbildung 3 wird deutlich, daß die meisten Autoren entweder eine Methylierung oder eine Säulenchromatographie für eine Östriolbestimmung erforderlich halten. Die Methoden, die sowohl eine Methylierung

und eine Säulenchromatographie einschließen, sind gewöhnlich für Östriolbestimmungen im ersten Drittel der Schwangerschaft ausreichend empfindlich und genau. Die vorgelegten Daten zeigen, daß für jede Phase der Schwangerschaft Methoden zur Verfügung stehen, die mit ausreichender Zuverlässigkeit den Östriolgehalt im 24-Stundenharn erfassen können.

In Abbildung 4 sind die verschiedenen Normbereiche einiger hier angeführter Östriolbestimmungsmethoden einander gegenübergestellt. Bei den verschiedenen Methoden wird eine deutliche Streuung des Normbereiches sichtbar.

Die bisher vorliegenden Werte für Östriol im peripheren Blut schwangerer Frauen lassen gegenwärtig noch keine Schlüsse zu, ob solche Bestimmungen im Plasma einen zuverlässigen Indikator für den Zustand von Fetus und Placenta darstellen (38, 39).

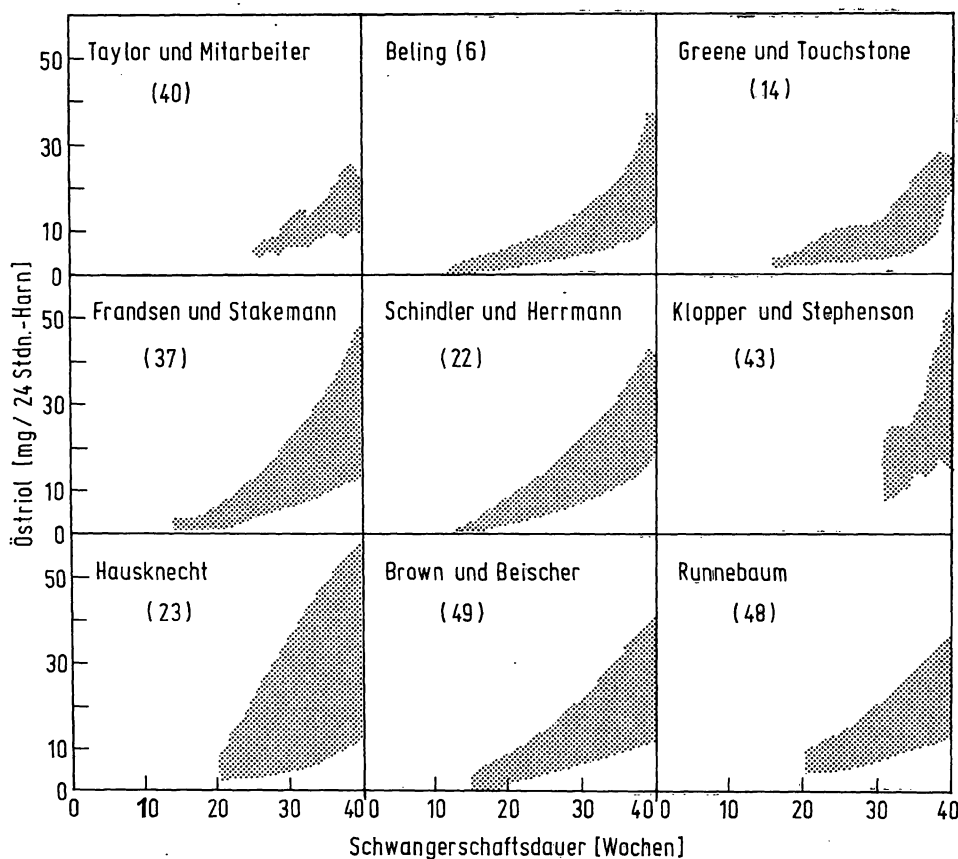


Abb. 4  
Normalkurven verschiedener Laboratorien für die Östriolausscheidung im Harn während der Schwangerschaft

#### Literatur

1. STEVENSON, M. F. und G. F. MARRIAN, *Biochem. J.* 41, 507 (1947). — 2. BROWN, J. B., *Biochem. J.*, 60, 185 (1955). — 3. BAULD, W. S., *Biochem. J.*, 63, London, 488 (1956). — 4. BROWN, J. B. und H. A. F. BLAIR, *J. Endocr.* 17, 411 (1958). — 5. BROWN, J. B., S. C. MCLEOD, C. MACNAUGHTAN, M. A. SMITH und B. SMITH, *J. Endocr.* 42, 5 (1968). — 6. BELING, C. G., *Acta endocr., K'hvn Suppl.* 79 (1963). — 7. ADLERCREUTZ, H. und T. LUUKKAINEN, Gas phase chromatographic methods for estrogens in biological fluids. In: *Monogr. on Endocrinology*, (eds. K. B. Eik-Nes and E. C. Horning) Vol. II, p. 72. Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg—New York (1968). — 8. FRANDSEN, V. A., The excretion of oestriol in normal human pregnancy, Copenhagen, Munksgaard (1963). — 9. HOBKIRK, R., A. ALFHEIM und S. BUGGE, *J. Clin. Endocr.*, Springfield 19, 1352 (1959). — 10. FRANDSEN, V. A., *Acta endocr., K'hvn* 50, 418 (1965). — 11. EBERLEIN, W. R., A. M. BONGIOVANNI und C. M. FRANCIS, *J. Clin. Endocr.*, Springfield 18, 1274 (1958). — 12. KLOPPER, A. I. und G. R. WILSON, *J. Obstetr. Gynaec. Brit. Empire* 69, 533 (1962). — 13. BROWN, J. B. und M. G. COYLE, *J. Obstetr. Gynaec. Brit. Empire* 70, 219 (1963). — 14. GREENE, J. W. Jr. und J. C. TOUCHSTONE, *Am. J. Obstetr. Gynec.*, 85, 1 (1963). — 15. DICZFALUSY, E. und A. WESTMAN, *Acta endocr., K'hvn* 21, 321 (1956). — 16. IFFRICH, G., *Hoppe-Seylers Z.*



Sie analysieren vielseitiger, schneller, bequemer und erzielen genauere Ergebnisse mit dem  
UV-Spektralphotometer SP 1800 — eine Neuentwicklung aus dem Programm **PYE UNICAM**

## damit ist Ihr Analysenproblem gelöst

Das Doppelstrahl-Spektralphotometer für den ultravioletten und sichtbaren Bereich hat die hohe photometrische Genauigkeit von  $\pm 0,002$  E. Es wird als Grundgerät eingesetzt mit direkter Extinktionsanzeige auf eingebautem Zeigerinstrument mit 4 Extinktionsskalen (0–0,2 E; 0–0,5 E; 0–1,0 E und 0–2,0 E); umschaltbar für Konzentrationsanzeige; hochauflösendem Gitter-Monochromator; großem Probenraum und zweiter Probenstelle; automatischem Lampenwechsel.

Als vollautomatisches Spektralphoto-

meter-System bietet es Ihnen durch mehrere Zusatz-Einheiten weitere Vorteile:

Spektrendarstellung — komprimierte und gedehnte Spektren — durch synchronisierte Registrierung auf dem Schreiber AR 25; digitale Datenausgabe; wiederholte Registrierung eines Wellenlängenbereiches sowie bei mehreren automatisch vorwählbaren Wellenlängen; Mehrkanalbetrieb für kinetische Untersuchungen; automatischer Probenwechsler; besondere Schaltungen erlauben das Programmieren von wiederholten, ver-

zögerten oder ferngesteuerten Messungen mehrerer Proben.

Ausführliches Informationsmaterial liegt für Sie bereit. Bitte fordern Sie es an.

Philips Elektronik Industrie GmbH  
2000 Hamburg 63 · Röntgenstraße 22  
Telefon (0411) 50 10 31

Büros in: Berlin Tel. (0311) 24 59 08, Düsseldorf Tel. (0211) 34 60 51, Dortmund Tel. (0231) 4 19 61, Frankfurt Tel. (0611) 7 91 31, Hannover Tel. (0511) 1 66 01, München Tel. (0811) 7 67 91, Stuttgart-Fellbach Tel. (0711) 58 90 81, Bielefeld Tel. (0521) 2 30 81, Bremen Tel. (0421) 31 00 41, Nürnberg Tel. (0911) 46 47 63.



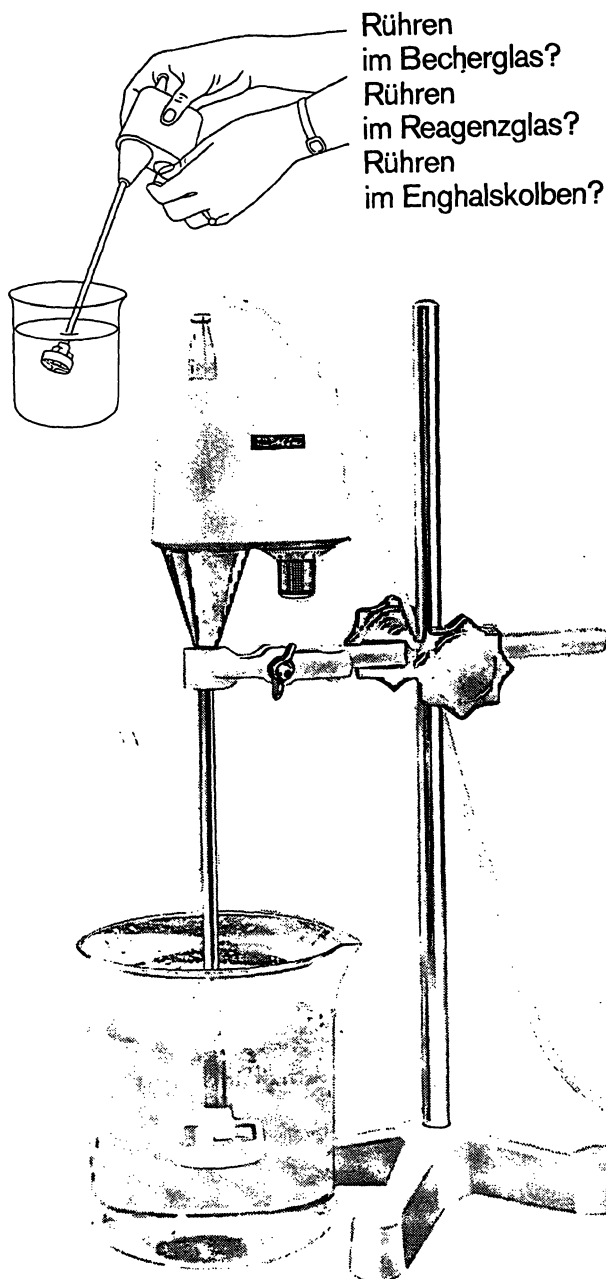
Analysengeräte

Wir interessieren uns für das beschriebene UV-Spektralphotometer SP 1800 und bitten um

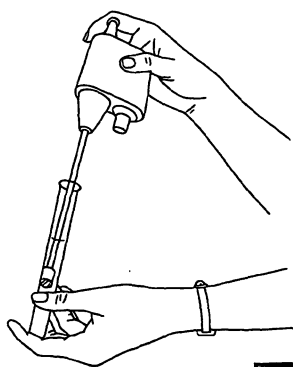
- ☐ Zusendung ausführlicher Unterlagen
- ☐ ein Angebot
- ☐ eine unverbindliche Vorführung

Gewünschtes bitte ankreuzen oder ergänzen

# PHILIPS



## IKA-RM 10 Mix



Ein Kleinrührgerät,  
das viele  
Rühraufgaben löst.  
Arbeitsdrehzahl:  
100–3000 UpM.  
Steckdosentrafo:  
220/6 V, oder  
Batteriebetrieb  
Gewicht:  
150 g



**IKA-WERK**

Janke & Kunkel KG · 7813 Staufen i. Br.  
Postfach 44 · Tel. (07633) 5294

## ARBEITSMETHODEN DER MODERNEN NATURWISSENSCHAFTEN

Herausgegeben von Prof. Dr. KURT FISCHBECK

KONRAD DORFNER

## Ionenaustauscher

3. Auflage

Mit 100 Abbildungen, 27 Tabellen im Text und 1 Tabellenanhang  
(mit 19 Tabellen). Oktav. XII, 320 Seiten. 1970. Plastikeinband  
DM 58,—

Nach der erweiterten Einführung wird eine ausführlichere Darstellung der verschiedenen Ionenaustauschertypen sowie ihrer Eigenschaften und Prüfmethode gegeben. Besonders über die Verwendung der Ionenaustauscher in der Technik wird im einzelnen berichtet, um den Neuentwicklungen gerecht zu werden. So sind die rechnerische Behandlung und die speziellen Verfahren des Festbettverfahrens, die neuesten Entwicklungen der kontinuierlichen Verfahren, die Wasseraufbereitung mit Ionenaustauschern und die Verwendung der Ionenaustauscher zur Abwasserreinigung, Metallgewinnung, Zuckerherstellung und sonstiger technischer Anwendungen in dem vorgegebenen Rahmen so umfassend wie möglich dargestellt worden. Die übrigen Kapitel wurden nach den neuesten Ergebnissen durchgearbeitet, verbessert und ergänzt.

JOHANNES FLÜGGE

## Grundlagen der Polarimetrie

Gerätekunde und Meßtechnik

Oktav. Mit 72 Abbildungen und 28 Tabellen. XII, 159 Seiten.  
1970. Plastikeinband DM 48,—

Wurde die Polarimetrie bereits seit langem als analytisches Verfahren, z. B. in Zuckerfabriken und in Betrieben der pharmazeutischen Chemie, angewandt, so hat sie sich in neuerer Zeit auch in der Erforschung von Molekülstrukturen als aufschlußreich erwiesen, besonders seitdem es automatische und Spektralanalysen bis ins Ultraviolett gibt. Das vorliegende Werk informiert über Grundlagen, Meßtechnik und moderne Geräte dieser optischen Methode und berücksichtigt ihren Stand bis in die jüngste Zeit, wobei neben der Analytik auch die Bestimmung der Rotationsdispersion, der magneto-optischen Drehung des Lichts und der Elliptizität, wie sie bei Zirkulardichroismus auftritt, besprochen werden. Photoelektrische Polarimeter und Saccharimeter werden ausführlich behandelt.

Walter de Gruyter & Co · Berlin

- physiol. Chem. 312 1 (1958). — 17. ENGEL, E. E., W. R. JR. SLAUNWHITE, P. CARTER und I. I. NATHANSON, J. biol. Chemistry 185, 255 (1950). — 18. CASSMER, O., Acta endocr., K'hvn Suppl. 45, 25 (1959). — 19. WOTIZ, H. H. und S. J. CLARK, Gas Chromatography in the Analysis of Steroid Hormones. Plenum Press, New York (1966). — 20. BENGTSSON, L. PH. und B. FORSGREN, Acta obstetr. gynec. Scand. 45, 155 (1966). — 21. NILSSON, I. und L. PH. BENGTSSON, Acta obstetr. gynec. Scand. 47, 213 (1968). — 22. SCHINDLER, A. E. und W. L. HERRMANN, Gynaecologia (Basel) 161, 446 (1966). — 23. HAUSKNECHT, R. U., Obstetr. Gynec. Guide, Wash. 30, 639 (1967). — 24. KOBER, S., Biochem. Z. 239, 209 (1931). — 25. NOCKE, W., Biochem. J. 78, 593 (1961). — 26. ITTRICH, G., Acta endocr., K'hvn 35, 34 (1960). — 27. STOA, K. F. und T. THORSEN, Acta endocr. K'hvn 41, 481 (1962). — 28. BACHMANN, C. J., biol. Chemistry 131, 463 (1939). — 29. DALE, E., J. W. GREENE, und J. L. DUHRING, Amer. J. Obstetr. Gynec. 92, 112 (1965). — 30. SCHOLLER, R., P. LEYMARIE, M. HERON und M. F. JAYLE, Acta endocr. K'hvn 107, 7 (1966). — 31. WOTIZ, H. H. und H. F. MARTIN, Fed. Proc. 20, 99 (1961). — 32. YOUSEM, H. L., Amer. J. Obstetr. Gynec. 88, 375 (1964). — 33. TOUCHSTONE, J. C., J. Gaschromatography 170 (1964). — 34. BORTH, R., Ciba Found Collog. Endocr. 2, 45 (1952). — 35. BORTH, R., Vitamines und Hormones 15, 259 (1957). — 36. BROWN, J. B., R. D. BULBROOK, und F. C. GREENWOOD, J. Endocr. 16, 41 (1957). — 37. FRANDSEN, V. A. und G. STAKEMANN, Acta endocr. K'hvn 44, 183 (1963). — 38. NACHTIGALL, L., M. BASSETT, U. HOGSANDER, S. SLAGLE und M. LEVITZ, J. Clin. Endocr., Springfield 26, 941 (1966). — 39. SELINGER, M. und M. LEVITZ, J. Clin. Endocr., Springfield (1969) 995. — 40. TAYLOR, E. S., P. D. BRUNS, J. W. DUNCAN und V. E. DROSE, Amer. J. Obstetr. Gynec. 81, 625 (1961). — 41. WOTIZ, H. H. und H. F. MARTIN, Analytic. Biochem. 3, 97 (1962). — 42. PREEDY, R. K. und E. H. AITKEN, J. biol. Chemistry. 236, 1300 (1961). — 43. KLOPPER, A. I. und R. STEPHENSON, J. Obstetr. Gynaec. Brit. Empire 69, 28 (1966). — 44. TAYLOR, E. S., A. HASSNER, P. D. BRUNS und V. E. DROSE, Amer. J. Obstetr. Gynec. 85, 10 (1963). — 45. TOUCHSTONE J. C., J. W. JR. GREENE, R. C. McELROY und T. MURAWEC, Biochemistry USA 2, 653 (1963). — 46. FRANDSEN, V. A. und G. STAKEMANN, Acta endocr. K'hvn 44, 196 (1963). — 47. ADLERCREUTZ, H. und T. LUUKKAINEN, Determination of urinary estrogens by gas chromatography. In: Gas chromatography of steroids in biological fluids, (ed. M. B. Lipsett). Plenum Press, p. 215. New York (1965). — 48. RUNNEBAUM, B., K. HOLZMANN und J. ZANDER, unveröffentlichte Resultate. 49. BROWN, J. B. und N. A. BEISCHER, Fifth World Congr. Gynaec Obstet. Butterworths, Australia (1967). 50. BATES, R. W. und H. COHEN, Endocrinology 47, 166, 182 (1950).

Priv.-Doz. Dr. B. Runnebaum  
Priv.-Doz. Dr. K. Holzmann  
1. Univ.-Frauenklinik  
8 München 15  
Maistr. 11